INSTITUUT VOOR PLANTENZIEKTENKUNDIG ONDERZOEK

WAGENINGEN, NEDERLAND
DIRECTEUR: Dr. J. G. TEN HOUTEN

MEDEDELING No. 266

EEN VERGELIJKING TUSSEN VERSCHILLENDE TOETSMETHODEN VOOR HET AARDAPPEL-Y-VIRUS

(A COMPARISON OF DIFFERENT METHODS FOR TESTING POTATO VIRUS Y)

DOOR

J. A. DE BOKX



OVERDRUK UIT: T. PL.-ZIEKTEN, 67: 303 – 306, 1961



Office and main laboratory:

Director:
Deputy director and head of the Entomological Dept.:

Head of the Mycological Dept.:

Head of the Nematological Dept.: Head of the Plant Disease Resistance Dept.:

Head of the Virological Dept.:

Head of the Section Agricultural Aviation: Head of the Section Biochemical Research and Application of Radioactive Isotopes:

Head of the Section Air Pollution Problems:

Dr. H. J. DE FLUITER, Wageningen. Ir. J. H. VAN EMDEN, Wageningen. Dr. Ir. J. W. SEINHORST, Wageningen. Dr. J. C. s'JACOB, Wageningen.

Miss Drs. F. Quak, Wageningen. Miss M. C. KERSSEN, Wageningen.

Dr. J. H. VENEKAMP, Wageningen. Ir. F. H. F. G. SPIERINGS. Wageningen.

Research workers at the Wageningen Laboratory:

Dr. Ir. A. B. R. BEEMSTER, Virologist Ir. J. H. VAN EMDEN, Phytopathologist Ir. J. A. DE BOKX, Virologist Dr. Ir. L. Bos, Virologist Dr. H. H. EVENHUIS, Entomologist Dr. H. J. DE FLUTTER, Entomologist Dr. C. J. H. FRANSSEN, Entomologist Dr. J. GROSJEAN, Phytopathologist Dr. N. Humber Dr. Phytopathologist Ir. N. Humber Dr. Phytopathologist

Ir. N. HUBBELING, Phytopathologist and

Dr. J. C. s'JACOB, Phytopathologist and

Miss M. C. Kerssen, Agricultural aviation

Miss Dr. C. H. KLINKENBERG, Nematologist

Ir. R. E. LABRUYÈRE, Phytopathologist Drs. H. P. Maas Geesteranus, Phytopatho-

D. Z. MAAT, Virologist
F. A. VAN DER MEER, Entomologist
Dr. J. C. MOOL, Phytopathologist
J. P. W. NOORDINK, Radiochemist
W. C. NIIVELDT, Entomologist
IV. H. DEN OUDEN, Nematologist
Miss Drs. H. J. PFABLITZER, Virologist
II. A. VAN RAAY, Plantphysiologist
Miss Drs. F. QUAK, Virologist
Drs. L. E. VAN'T SANT, Entomologist
Dr. II. J. W. SEINHORST, Nematologist
Dr. H. H. SOL, Virologist
II. J. VAN DER SPEK, Phytopathologist
III. F. H. F. G. SPIERINGS, Plantphysiologist
G. M. TICHEL AAR. Phytopathologist
G. M. TICHEL AAR. Phytopathologist D. Z. MAAT, Virologist G. M. TICHELAAR, Phytopathologist Dr. F. TJALLINGH, Phytopathologist Ir. E. UBELS, Phytopathologist

Research workers elsewhere

Drs. J. M. M. v. Bakel, Phytopathologist detached to "Proefstation voor de Groenteteelt Ir. C. Kaai, Nematologist in de volle grond", Alkmaar, tel. 02200-6541.

Drs. D. J. De Jong, Entomologist detached to "Proefstation voor de Fruitteelt in de volle Ir. G. S. Roose, Phytopathologist grond", Wilhelminadorp, Goes, tel. 01100-2261.

Drs. D. J. de Jong, Entomologist actached to "Proefstation voor de Fruitteelt in de volle grond", Wilhelminadorp, Goes, tel. 01100-2261.

M. van de Vrie, Entomologist Ir. T. W. Lefering, Phytopathologist/Virologist, detached to "Proefstuin Noord Limburg" Venlo, tel. 04700-2503.

Ir. F. A. Hakkaart, Virologist detached to "Proefstation voor de bloemisterij Drs. G. Scholter, Phytopathologist in Nederland", Aalsmeer, tel. 02977-688.

Dr. K. Verhoeff, Phytopathologist, detached to "Proefstuin voor de Groente en-Fruitteelt onder glas", Naaldwijk, tel. 01740-4545.

Guest workers:

Dr. P. A. VAN DER LAAN, Entomologist, "Laboratorium voor toegepaste Entomologie der Gemeente Universiteit", Amsterdam, tel. 020-56282.

Dr. Ir. G. S. VAN MARLE, Entomologist, Diepenveenseweg 226, Deventer, tel. 06700-3617. Ir. G. W. ANKERSMIT, Entomologist, "Laboratorium voor Entomologie", Agricultural Uni-

versity, Wageningen, tel. 08370-2438.
Dr. Ir. J. B. M. van Dinther, Entomologist, "Laboratorium voor Entomologie", Agricultural University, Wageningen, tel. 08370-2438.

Aphidological Adviser:

Mr. D. Hille Ris Lambers, Entomologist, T.N.O., Bennekom, tel, 08379-2458,

EEN VERGELIJKING TUSSEN VERSCHILLENDE TOETSMETHODEN VOOR HET AARDAPPEL-Y-VIRUS¹

With a summary: A comparison of different methods for testing potato virus Y

J. A. DE BOKX

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

In de literatuur wordt algemeen aangenomen, dat tabak voor het betrouwbaar aantonen van het Y-virus de meest geschikte toetsplant is (Ross, 1960). Uit onderzoek, waarbij een reeks waardplanten voor het YN-virus werd onderzocht, bleek dat bepaalde vormen van Solanum demissum (Cockerham, 1958; Köhler, 1953) eveneens zeer goed als toetsplant kunnen worden gebruikt (DE BOKX, 1961). Om eventuele verschillen tussen de toetsplanten te kunnen aantonen, werden in de loop van 1960 enige proeven uitgevoerd, waarbij Y-virusbevattend inoculum op tabak, A6 (kruising van Solanum demissum en Aquila) en Solanum demissum "Y" werd gebracht.

MATERIAAL EN METHODIEK

Het inoculum, dat achtereenvolgens werd gebruikt, bestond uit sap van aangesneden aardappelknollen van diverse rassen, besmet met verschillende vormen van het Y-virus, uit bladsap van met YN-virus geïnoculeerde aardappelplanten van het ras Bintje en uit sap van spruiten van knollen afkomstig van primair met Y^N-virus geïnfecteerde planten van het ras Bintje.

De inoculatie met knolinoculum werd uitgevoerd door aan het apicale einde van de gesproten knol met een gedesinfecteerd mes een kapje van ongeveer ¹/₂ cm dikte te snijden en vervolgens het snijvlak van de knol onder zachte druk in aanraking te brengen met de toetsbladeren, die van te voren lichtelijk bestrooid waren met carborundumpoeder 400 mesh. De knollen waren afkomstig uit praktijkvelden en hoofdzakelijk met YN-virus besmet. Na toetsing werden de knollen in de kast uitgeplant. De uit deze knollen opgegroeide planten werden daarna visueel op aanwezigheid van Y-virus beoordeeld.

Het bladsap-inoculum was afkomstig van de toppen van planten, die op een blad ter halve hoogte van deze planten met YN-virus waren geïnoculeerd. Er werd gewerkt met drie series planten, die op een leeftijd van respectievelijk zes, acht en tien weken werden besmet. In elke serie had het rooien plaats

respectievelijk 10, 17 en 24 dagen na inoculatie.

Het inoculum van de spruiten werd verkregen door gebruik te maken van de gekneusde massa van Y-virusbevattende spruiten. De gekneusde massa van de spruiten werd met een gedesinfecteerd pincet in aanraking gebracht met de toetsbladeren, die met carborundumpoeder waren bestrooid. Deze spruiten

¹ Aangenomen voor publikatie 6 maart 1961.

waren verkregen van knollen van het ras Bintje, die primair met Y^N-virus besmet waren. De knollen waren afkomstig van planten, die op een leeftijd van 11 weken met Y^N-virus waren geïnoculeerd en vervolgens in twee groepen, respectievelijk negen en veertien dagen na de inoculatie, werden gerooid. Nadat de knollen waren getoetst op de hybride A6 en tabak, werden zij in de kas uitgeplant. De uit deze knollen opgegroeide planten werden visueel op Y-virus beoordeeld. De bewaring en behandeling van de toetsbladeren geschiedde op de gebruikelijke wijze (DE BOKX, 1960).

RESULTATEN

Door het gebruik van knolinoculum konden op de toetsplanten tabak en A6 maar zeer weinig zieke knollen worden achterhaald. De visuele waarneming aan de plantjes, die uit de getoetste knollen waren opgegroeid, gaf in alle onderzochte gevallen meer zieke knollen aan dan de beide toetsplanten. Slechts in één geval was het verschil tussen visuele waarneming en toetsplanten gering. In dit geval waren de knollen afkomstig van planten, waarvan op het oog reeds kon worden vastgesteld dat zij met Y^N-virus waren besmet. De knollen, waarin met behulp van A6 en tabak het Y-virus was aangetoond, waren in beide gevallen dezelfde. Deze knollen werden ook met de visuele beoordeling achterhaald.

Zoals verder uit tabel 1 blijkt, geven A6 en tabak als toetsplanten dezelfde resultaten.

Tabel 1. Aantallen knollen, waarin Y-virus kon worden aangetoond door gebruik van knolinoculum met de toetsplanten tabak en A6, in vergelijking met de visuele waarneming.

Number of tubers, containing virus Y, detected by means of tobacco and A6 using tuber inoculum in comparison with visual observation.

Ras Variety	Totaal aantal knollen Total number of tubers	Als ziek onderkend door middel van visuele waar- neming Diseased tubers, detected by	Als ziek onderkend door middel van toetsplanten Diseased tubers detected by means of test plants	
		means of visual observation	Tabak Tobacco	A
Bintje	21	11	2	2
Bintje	21	12	0	0
Climax	21	14	0	0
Climax	21	20	19	19
limax	21	14	3	3
Record	21	13	0	0
Sirtema	21	11	2	2

Uit tabel 2 blijkt, dat bij het gebruik van bladsap als inoculum eveneens geen uitgesproken verschil tussen de verschillende toetsplanten kon worden geconstateerd. In de tabel is het totale aantal als ziek onderkende planten weergegeven. Er werden echter niet altijd dezelfde planten door de verschillende toetsplanten als ziek aangeduid. Hoewel het met behulp van A6 achterhaalde aantal met Y-virus besmette planten lager is dan het aantal door SdY en tabak vastgesteld, zijn de resultaten in de reeks niet in alle gevallen slechter dan bij de andere toetsplanten.

TABEL 2. Aantallen primair zieke planten, vastgesteld met de toetsplanten tabak, A6 en SdY, waarbij bladsap van de topbladeren als inoculum werd gebruikt.

Number of primarily diseased plants, detected by means of tobacco, A6 and SdY, using sap of the topleaves as inoculum.

Leeftijd der planten in weken	Aantal dagen na inoculatie Number of days after inoculation	Toetsplant Test plant			Top gestekt	
Age of plant in weeks		Tabak Tobacco	A6	SdY	Top rooted	
6	10	0/8	0/8	4/8	8/8	
	17	4/8	3/8	5/8	5/5	
	24	6/8	4/8	6/8	6/7	
8	10	1/8	2/8	1/8	7/8	
	17	3/8	2/8	2/8	3/3	
	24	8/8	6/8	3/8	5/5	
10	10	0/8	0/8	3/8	1/6	
	17	1/8	0/8	0/8	1/2	
	24	1/8	0/8	0/8		

Teller = aantal planten, waarin Y-virus kon worden aangetoond

Noemer = totale aantal planten

Numerator = number of diseased plants detected by testing

Denominator = total number of plants

Om de aanwezigheid van virus definitief te kunnen vaststellen, werden de toppen, waarvan het blad voor het bladsap was verkregen, gestekt. Uit de gegevens hierover blijkt, dat in de meeste gevallen op deze wijze het grootste aantal zieke toppen kan worden aangetoond. Uit de gegevens van tabel 2 kan verder worden geconcludeerd, dat "top"-inoculum geen betrouwbare resultaten oplevert ten aanzien van het al of niet werkelijk aanwezig zijn van het virus.

Uit tabel 3 blijkt, dat wanneer gekneusde spruiten van Y^N-virusbevattende knollen als inoculum worden gebruikt, de aantallen door de toetsplant A6 aangeduide besmette knollen volkomen overeenstemmen met de visuele waarneming van de uit deze knollen opgegroeide planten in de kas. Met tabak als toetsplant werden alleen bij de elf weken oude, negen dagen na inoculatie gerooide knollen, twee knollen minder gevonden dan bij de toetsing op A6. Bij de knollen gerooid 14 dagen na inoculatie waren de aantallen als ziek aan-

TABEL 3. Aantallen knollen, waarin Y^n -virus kon worden vastgesteld door middel van de toetsplanten tabak en A6 bij gebruik van spruiten als inoculum, in vergelijking met de visuele waarneming in de kas.

Number of tubers primarily infected with virus Y^n , detected by means of tobacco and A6, using sprouts as inoculum, in comparison with visual observation in the glasshouse.

Leestijd der planten	Aantal dagen na inoculatie Number of days after inoculation	Totale aantal knollen Total number of tubers	Als ziek onderkend door middel van: Number of diseased tubers, detected by:		
Age of plant in weeks			Visuele waarneming Visual observation	Toetsplanten Test plants	
				Tabak Tobacco	A6
11	9 14	10 10	6 5	4 5	6 5

geduide knollen voor beide toetsplanten gelijk. In alle gevallen konden door de drie toetsmethoden steeds dezelfde knollen als besmet met Y-virus worden aangetoond. Volgens de waarnemingen uit tabel 3 geeft tabak als toetsplant voor het Y^N-virus minder goede resultaten dan A6; worden echter alle gegevens nagegaan, dan kunnen geen betrouwbare verschillen tussen de toetsplanten worden vastgesteld.

SAMENVATTING EN CONCLUSIE

In de literatuur wordt algemeen aangenomen, dat tabak ten opzichte van het aardappel-Y-virus de meest geschikte toetsplant is. In 1960 werden in verschillende proeven de toetsplanten tabak, A6 (kruising van Solanum demissum en het aardappelras Aquila) en Solanum demissum "Y" veelvoudig naast elkaar gebruikt. Als Y-virusbevattend inoculum werden naast bladsap ook aangesneden knollen en gekneusde spruiten aangewend. Het bleek, dat de aantallen zieke individuen, die konden worden aangetoond bij gebruik van de verschillende toetsplanten, vrijwel gelijk waren.

Door de verscheidenheid van inoculum mag worden aangenomen, dat een grote variatie heeft bestaan in virusconcentratie. Desalniettemin hebben genoemde toetsplanten gelijk gereageerd. Als algemene conclusie mag daarom worden aangenomen, dat de gebruikte toetsplanten als gelijkwaardig kunnen

worden beschouwd.

SUMMARY

In the literature it is reported, that tobacco is the best test plant for detecting potato virus Y. A large number of tests were performed with tobacco, the *Solanum demissum* hybrid A6 and *Solanum demissum* "Y" to compare them as test plants for this virus. Three sources of inoculum were used viz. sap from leaves, sections of tubers and pressed sprouts and it may be assumed, that they differed appreciably with regard to virus concentrations.

The three hosts proved equally efficient in detecting infection irrespective of the type of inoculum used and it must therefore be concluded, that tobacco,

A6 and SdY are of equal value as test plants for virus Y.

LITERATUUR

BOKX, J. A. DE, – 1960. Het onderkennen van het "nieuwe" Y-virus (Tabak-Rippenbräune Virus) in aardappel door middel van de bladtoets. I.P.O.-Onderzoekverslag no. 6.

BOKX, J. A. DE, – 1961. Waardplanten van het aardappel-Yn-virus. T. Pl.-ziekten 67: 273–277. COCKERHAM, G., – 1958. Experimental breeding in relation to virus resistance. Proc. 3rd Conf. Pot. Virus Dis., Wageningen – Lisse, 1957: 199–203. KÖHLER, E., – 1953. Der Solanum demissum – Bastard "A6" als Testpflanze verschiedener

Mosaikviren, Züchter 23: 173-174.

Ross, H., – 1960. Die Praxis der Züchtung auf Infektionsresistenz und extremer Resistenz (Immunität) gegen das Y-Virus der Kartoffel. Europ. Pot. J. 3: 296–306.



